

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Krisan merupakan salah satu tanaman hias berupa perdu dengan sebutan lain seruni atau bunga emas (*Golden Flower*) yang berasal dari dataran Cina. Bunga yang dikenal sebagai salah satu "Raja Bunga Potong" ini semakin banyak penggemarnya karena selain bentuk dan tipe yang beragam, warna bunganya sangat bervariasi dan indah. Permintaan pasar dalam dan luar negeri semakin meningkat setiap tahunnya (Lampiran 1) (Marwoto, 2005).

Bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) sudah lama digunakan untuk mengobati berbagai penyakit seperti demam, sakit kepala, batuk dan gangguan penglihatan secara tradisional. Beberapa kandungan senyawa alaminya yang potensial seperti flavonoid, triterpenoid dan *caffeoylquinic acid derivatives* telah diisolasi pada beberapa penelitian sebelumnya (Xie dkk., 2009). Senyawa-senyawa tersebut menunjukkan efek farmakologi yang sangat luas, diantaranya sebagai penghambat dari aktivitas enzim HIV-1 *integrase* dan *aldose reductase*, dan sebagai antioksidan, anti-radang, anti-mutagenik dan anti-aktivitas alergi (Xie dkk., 2009).

Kemampuan krisan sebagai tanaman herbal berhubungan dengan komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya. Sayangnya informasi dan penelitian tentang kandungan senyawa kimia dalam krisan masih sangat

sedikit. Oleh karena itu kandungan senyawa kimia pada bunga krisan sangat menarik untuk dipelajari (Sun dkk., 2010).

Flavonoid adalah jenis senyawa alami yang merupakan bagian dari senyawa fenolik, yang banyak membentuk pigmen tumbuhan. Bagi manusia, flavonoid berguna sebagai antioksidan, antimikrobia, antibakteri, antivirus, antiinflamasi, antialergi, antimutagenik, antikanker, antiplatelet dan lain-lain (Setyawan dan Darusman, 2008). Memperhatikan adanya potensi pemanfaatan serta banyaknya kandungan senyawa flavonoid dari tanaman krisan, kiranya perlu dilakukan pengembangan penelitian yang mengarah pada pencarian metode yang efektif dan efisien untuk penyediaan senyawa flavonoid dalam jumlah yang banyak dan dalam waktu yang singkat.

Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994), metode yang sering digunakan untuk memproduksi metabolit sekunder tumbuhan adalah kultur *in vitro*. Penelitian mengenai kultur *in vitro* pada *Chrysanthemum* pertama kali dilakukan oleh Morel dan Martin pada tahun 1952. Sayangnya kegiatan kultur *in vitro* pada tanaman krisan lebih banyak diorientasikan pada produksi benih atau bibit unggul daripada untuk produksi senyawa metabolit sekunder.

Kultur *in vitro* termasuk teknik perbanyakan tanaman secara vegetatif buatan berdasar pada sifat totipotensi tumbuhan. Kultur yang lebih berpotensi dalam produksi metabolit sekunder adalah kultur suspensi sel dan kultur kalus (Rahardja dan Wiryanta, 2005). Pembentukan dan pertumbuhan kalus dapat dipacu dengan pemberian zat pengatur tumbuh, baik auksin maupun dikombinasikan dengan sitokinin. Kultur *in vitro* dapat diaplikasikan untuk

memproduksi senyawa kimia alami secara cepat, seragam, dan tidak membutuhkan lahan yang luas (Indrayanto, 1988).

Pada penelitian ini akan dilakukan induksi kalus krisan yang diharapkan dapat menjadi sumber produksi metabolit sekunder berupa senyawa flavonoid dengan perlakuan variasi konsentrasi asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dalam medium *Murashige and Skoog* (MS) yang digunakan. Menurut Sulistyawati (2011), imbangannya kandungan hormon endogen yang diproduksi tanaman terutama dari kelompok auksin dan sitokinin akan mempengaruhi sintesis senyawa-senyawa di dalam tanaman termasuk sintesis metabolit sekunder sehingga pemberian hormon eksogen diasumsikan dapat mempengaruhi sintesis metabolit sekunder.

Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat merupakan golongan auksin yang sering digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus embriogenik. Hormon ini mempunyai sifat lebih stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel atau saat pemanasan pada proses sterilisasi, lebih tersedia, lebih murah dan paling efektif dalam memacu pembentukan kalus (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Penambahan 2,4-D dalam medium akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus serta meningkatkan senyawa kimia alami flavonoid (Rahayu dkk., 2003).

Menurut Rahayu dkk. (2003), dalam sintesis flavonoid auksin berfungsi untuk meningkatkan kerja enzim fenilalanin amonia liase (PAL) yang menghasilkan sinamat dari fenilalanin. Jalur berikutnya yaitu

pembentukan flavonoid dari malonil Co-A, apabila auksin berkurang maka pembentukan flavonoid juga berkurang.

Metabolit sekunder di dalam tanaman hanya terdapat dalam jumlah yang kecil, oleh karena itu pembentukan metabolit sekunder perlu dirangsang dengan penambahan prekursor ke dalam medium kultur (Rinanto dkk., 2010). Konsep tersebut didasarkan pada gagasan bahwa beberapa komponen, baik berupa senyawa pemula atau pengantara dari jalur biosintesis metabolit sekunder, dapat menjadi peluang dalam peningkatan hasil produk akhir (Rao dan Ravishankar, 2002).

Isoflavon dan flavonoid terbentuk dari fenilalanin, yaitu sebuah prekursor metabolik *upstream* pada jalur pembentukan felnilpropanoid. Suplementasi berupa fenilalanin diharapkan dapat meningkatkan jumlah dari komponen target (Shinde dkk., 2009). Maka dari itu, selain 2,4-D akan ditambahkan pula asam amino Fenilalanin sebanyak 3 mg/L ke dalam medium kultur sebagai prekursor pembentukan flavonoid.

Kultur *in vitro* dapat berhasil dengan baik apabila syarat yang diperlukan terpenuhi, yaitu meliputi pemilihan eksplan sebagai bahan dasar untuk pembentukan kalus dan penggunaan medium yang cocok. Meskipun pada prinsipnya semua jenis sel dapat ditumbuhkan, tetapi sebaiknya dipilih bagian tanaman yang masih muda dan mudah tumbuh yaitu bagian meristem, misalnya daun muda, ujung batang, keping biji, dan sebagainya (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Eksplan yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian batang muda dan daun muda dari tanaman krisan.

B. Keaslian Penelitian

Penelitian sebelumnya oleh Sun dkk. (2010), dilakukan identifikasi senyawa flavonoid dan senyawa volatil dari bunga *C. morifolium* Ramat dengan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dan *Gas Chromatography - Mass Spectrometer* (GC-MS). Pada penelitian ini ditemukan delapan senyawa flavonoid dan 58 senyawa volatil yang teridentifikasi. Bunga kering *C. morifolium* Ramat dihaluskan dan diekstraksi menggunakan etanol pada suhu 80°C selama 200 menit. Kemudian ekstraknya diproses dan kandungan flavonoid dianalisis menggunakan HPLC. Senyawa flavonoid yang paling banyak adalah luteolin-7-glucoside dan quercetin.

Penelitian oleh Mani dan Senthil (2011), dilakukan perbanyakan *Chrysanthemum* melalui teknik somatik embriogenesis untuk tujuan farmasetika. Eksplan yang digunakan adalah daun dan petala. Tahapan penelitian dibagi menjadi induksi kalus di medium MS dengan variasi konsentrasi hormon 2,4-D kemudian pembentukan embrio somatik pada medium MS cair yang mengandung 1,0 mg/L BAP dan dilanjutkan pada regenerasi dan elongasi dari embrio somatik tersebut di medium MS yang mengandung 0,1 mg/L benzilaminopurin (BAP) + 2,0 mg/L Kinetin, terakhir adalah induksi perakaran menggunakan medium MS Basal (MS0). Respon induksi kalus terbaik dari eksplan daun ditemukan pada medium MS dengan 1,5 mg/L 2,4-D dan respon induksi kalus terbaik dari eksplan petala ditemukan pada medium MS dengan 2,0 mg/L 2,4-D.

Pada penelitian Obukosia dkk. (2005) mengenai pengaruh ZPT terhadap respon kultur *Chrysanthemum*, diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa medium MS yang diberi 2 mg/L 2,4-D merupakan medium yang paling optimal.

Penelitian oleh Vantu (2006) dilakukan regenerasi tanaman dari *C. morifolium* Ramat (*cultivar Romica*) dari kultur kalus yang menggunakan eksplan batang dan daun. Dalam penelitian tersebut dikemukakan bahwa variasi tingkat pembentukan dan pertumbuhan kalus dipengaruhi oleh jumlah hormon 2,4-D dan jenis eksplan yang digunakan. Kapasitas dediferensiasi kalus dan pembentukan tunas dari kultur yang berasal dari eksplan batang lebih baik dibanding kultur dari eksplan daun. Kalus terbaik dihasilkan pada perlakuan hormon 2,0 mg/L 2,4-D + 0,2 mg/L Kinetin dan 2,0 mg/L 2,4-D + 2,0 mg/L Kinetin.

Hormon 2,4-D telah banyak digunakan pada berbagai penelitian untuk produksi senyawa metabolit sekunder, diantaranya adalah penelitian oleh Rahayu dkk. (2003) yang melihat pengaruh 2,4-D terhadap pembentukan dan pertumbuhan kalus serta kandungan flavonoid kultur kalus *Acalypha indica* L. Hasil yang diperoleh menunjukkan penggunaan auksin 2,4-D dapat memacu pertumbuhan kalus yang ditunjukkan dengan penambahan ukuran dan berat kalus, namun tidak ditemukan adanya senyawa flavonoid. Hal ini diduga 2,4-D yang ditambahkan dalam medium seluruhnya digunakan untuk meningkatkan pembentukan dan pertumbuhan ukuran kalus, sehingga untuk pembentukan flavonoid berkurang atau tidak ada.

Salah satu penelitian pengaruh asam amino terhadap peningkatan produksi flavonoid telah dilakukan oleh Masoumian dkk. (2011) yang melakukan perbandingan produksi flavonoid dengan penambahan prekursor berupa prolin, glutamin, fenilalanin dan naringenin pada kultur kalus *Hydrocotyle bonariensis*. Pada penelitian tersebut diperoleh bahwa penambahan 3 mg/L Fenilalanin ke dalam medium pertumbuhan menghasilkan produksi flavonoid yang tertinggi yaitu sebesar $11,43 \pm 0,12$ mg/g DW.

Berbeda dari penelitian-penelitian sebelumnya, pada penelitian ini akan dilakukan perbandingan pengaruh sumber eksplan berupa batang muda dan daun muda serta konsentrasi 2,4-D (0, 1, 2, 3, 4 mg/L) yang ditambahkan dalam medium MS terhadap pertumbuhan kalus dan produksi senyawa flavonoid secara *in vitro* dari kultur kalus krisan cv. Puspita Pelangi.

C. Rumusan Masalah

1. Jenis eksplan manakah yang paling baik bagi induksi kalus dan produksi flavonoid dari krisan cv. Puspita Pelangi?
2. Berapa konsentrasi hormon 2,4-D yang optimal bagi induksi kalus dan produksi flavonoid dari krisan cv. Puspita Pelangi?
3. Apakah induksi kalus dari krisan cv. Puspita Pelangi dapat menghasilkan senyawa flavonoid?

D. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui jenis eksplan yang paling baik bagi induksi kalus dan produksi flavonoid dari krisan cv. Puspita Pelangi.
2. Untuk mengetahui konsentrasi 2,4-D yang optimal bagi induksi kalus dan produksi flavonoid dari krisan cv. Puspita Pelangi.
3. Untuk mengetahui apakah induksi kalus dari krisan cv. Puspita Pelangi dapat menghasilkan senyawa flavonoid.

E. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mengembangkan metode kultur jaringan tanaman krisan dengan diperolehnya jenis eksplan yang paling baik dan konsentrasi 2,4-D yang paling optimal bagi produksi senyawa flavonoid dari tanaman krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) secara kuantitatif, terlebih untuk skala produksi yang lebih besar.